

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : XI



ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2019

XI Всероссийская научно-практическая конференция для молодых
учёных по проблемам водных экосистем,

посвященная памяти д.б.н., проф. С. Б. Гулина

Материалы конференции

Севастополь, 23–27 сентября 2019 г.

Севастополь
ФИЦ ИнБЮМ

2019

разнообразие в среднем (3.5). Ключевое болото «Схенусовое», несмотря на высокую степень трофности, имеет низкое видовое разнообразие жгутиконосцев и в абсолютных (12), и в относительных (6.0) значениях. Наиболее высоким видовым богатством характеризуется аапа болото (35 видов, в одной пробе - 15.3), что может быть связано с наличием здесь разнообразных по трофности и pH типов внутриболотных биотопов: олиготрофные гряды и евтрофные мочажины.

Дендрограмма фаунистического сходства жгутиконосцев исследованных болотных биотопов не показывает каких-либо явных закономерностей. Возможно, это связано с недостаточным объёмом материала (в некоторых болотах был исследован только один тип водного объекта). Стоит, однако, отметить, что биотопы олиготрофных болот (мочажины и проточные топи) формируют единый кластер.

Среди исследованных типов микробиотопов большинство видов жгутиконосцев отмечено в донных осадках (48 видов), при этом пробы с торфом показывают значительно более высокое видовое разнообразие в пересчете на пробу (17.0), чем детрит (6.2). На втором месте по видовому богатству оказались планктонные пробы (38 видов, в одной пробе - 7.3). Выжимки сфагнома характеризуются бедным видовым разнообразием жгутиконосцев (12 видов, в одной пробе - 6.0). Подобные закономерности прослеживались и ранее [3], где сфагнобионтные сообщества жгутиконосцев показывали наименьшее видовое разнообразие и наибольшую уникальность протистофауны. Также, бентосные сообщества характеризуются более высоким видовым богатством в сравнении с планктонными, так как большинство жгутиконосцев так или иначе ассоциированы с субстратом, полностью или частично прикреплены к нему, либо ползают или скользят по нему, а также плавают вблизи субстрата, где сконцентрирована подавляющая часть их пищевого ресурса.

Исследования выполнены при поддержке РНФ № 18-14-00239 (световая и электронная микроскопия). Работа Д.А. Филиппова выполнена при поддержке РФФИ №14-04-32258 (полевые исследования).

Список литературы

1. Жуков Б. Ф. Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев (биология, экология и систематика). Рыбинск : Ин-т биологии внутр. вод РАН, 1993. 160 с.
2. Adl S. M., Bass D., Lane C. E., et al. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of Eukaryotes // Journal of Eukaryotic Microbiology. 2019. Vol. 66, iss. 1. P. 4–119. <https://doi.org/10.1111/jeu.12691>
3. Мазей Ю. А., Тихоненков Д. В., Мыльников А. П. Распределение гетеротрофных жгутиконосцев в малых пресных водоёмах Ярославской области // Биология внутренних вод. 2005. № 4. С. 33–39.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АКТИНА И МИОЗИНА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ *IN SITU* ГИБРИДИЗАЦИИ С ПОМОЩЬЮ БИОИНФОРМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Пронозин А.Ю.¹, Водясова Е.А.¹, Старунов В.В.^{2,3}, Кутюмов В.А.²

¹Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь

²Санкт-петербургский государственный университет

³Зоологический институт РАН

Ключевые слова: *In situ* гибридизация, *Cristatella mucedo*, изоформы генов, биоинформатика

In situ гибридизация (ISH) - это высоко эффективный метод выявления экспрессии специфических генов в клетках и тканях. Выбор неправильной изоформы гена,

отсутствие анализа уровня экспрессии, анализ только одного транскриптома, предварительная отработка метода на неподходящем для этого гене: все это может приводить к отрицательному результату ISH. Именно поэтому разработка четкого алгоритма поиска генов-кандидатов для проведения *in situ* гибридизации является актуальной научной задачей, целью которой является минимизация возможных ошибок на всех этапах.

Разработка алгоритма проводилась для *Cristatella mucedo* (тип Bryozoa). Это водные, пресноводные, сидячие, колониальные животные. Необходимо было подобрать наилучшие гены-кандидаты для отработки *in situ* гибридизации. Для определения качества протокола было решено остановиться на мышечных белках актине и миозине, так как предполагалось, что максимальная экспрессия этих генов будет наблюдаться в мышечных тканях. Целью данной работы был поиск подходящих транскриптов, соответствующих актину и миозину, для последующего создания гибридизационных зондов.

Биоинформатический анализ включал в себя создание белковой базы данных для белков актина и миозина, сокращение числа транскриптов путем кластеризации, поиск гомологии по созданной базе, определение уровня экспрессии каждого транскрипта и дизайн праймеров для выбранных генов.

База данных для каждого белка формировалась на основе всех аминокислотных последовательностей, представленных в Universal Protein Resource (UniProt), для актина и миозина соответственно. Составленные библиотеки белков актина и миозина в дальнейшем использовались для поиска гомологии с транскриптами, полученными из общего транскриптома *Cristatella mucedo*, с помощью программы BLAST (функция blastx, e-value 1e-8) [1].

Различные транскрипты могут иметь высокий процент гомологии с одним и тем же белком, что обусловлено наличием различных изоформ. Для сокращения числа исходных транскриптов была проведена кластеризация с использованием программы Usearch [2]. Уровень идентичности между транскриптами составлял 0,85, центроиды определялись по длине. Такой подход позволяет оптимизировать производительность вычислений. Поиск гомологии проводился только для транскриптов, являющихся центроидами кластеров.

В результате было выявлено 126 транскриптов, проявивших гомологию с актином, и 64 транскрипта проявивших гомологию с миозином. В дальнейшем анализировались кластеры, центроиды которых имеют максимальный процент идентичности, при высоком значении перекрытия.

Оценка уровня экспрессии производилась на основе tpm, вычисленных в программе Kallisto [3].

Из полученных транскриптов для актина и миозина выбрано по одному транскрипту с наилучшими показателями tpm, e-value и процент идентичности.

Подбор праймеров осуществлен с помощью on-line сервис NCBI - Primer BLAST. Длина продукта выбрана в диапазоне от 200 до 1000 нуклеотидов, температура отжига от 50 до 60 С, разница температур отжига до 3, длина праймеров от 18 до 25 нуклеотидов.

Грант 14.WO3.31.0015.

Список литературы

1. Johnson M. NCBI BLAST: a better web interface // Nucleic Acids Research. 2008. Vol. 36, suppl. 2. P. W5-W9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn201>
2. Edgar R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST // Bioinformatics. 2010. Vol. 26, iss. 19. P. 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>

3. Bray N. L. Pimentel H., Melsted P., Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification // Nature Biotechnology. 2016. Vol. 34. P. 525–527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ СООБЩЕСТВ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ АРКТИЧЕСКИХ МОРЕЙ

Протопопова А.О., Брюханов А.Л.

ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова",
биологический факультет, г. Москва

Ключевые слова: биоразнообразие, морская микробиология, сообщества микроорганизмов, сульфатредуцирующие бактерии, Баренцево море, Белое море

Сульфатредуцирующие бактерии (СРБ) - строго анаэробные микроорганизмы, получающие энергию путём окисления различных, преимущественно низкомолекулярных, органических соединений или молекулярного водорода, что сопряжено с восстановлением сульфатов до сероводорода. СРБ широко распространены в различных анаэробных экосистемах, где присутствует сульфат, например, в морских донных осадках и илах сточных вод. СРБ играют ключевую роль в глобальных биогеохимических циклах углерода и серы в Мировом океане, велико их значение в процессах микробной коррозии и биоремедиации промышленных вод от тяжелых металлов и радионуклидов.

В настоящее время экономическое развитие Арктики является приоритетной международной и государственной задачей, поэтому и вопросам экологии северных морских регионов уделяется повышенное внимание. По результатам ряда морских арктических экспедиций было установлено, что процессы сульфатредукции в донных осадках арктических морей протекают весьма активно [1], а несколько уникальных штаммов СРБ, выделенных оттуда в чистые культуры, способны существовать в активном состоянии даже при отрицательных температурах [2, 3]. Наличие специальных адаптационных механизмов у психрофильных СРБ обеспечивает высокую удельную скорость их метаболизма даже в суровых условиях арктических морей.

Весьма перспективным объектом исследования биоразнообразия СРБ является Баренцево море. Оно имеет определенные отличия в гидрологическом и гидрохимическом плане от других арктических морей. Наиболее сильно подвержено влиянию теплого Нордкапского течения (ветвь Гольфстрима) именно Баренцево море, вследствие чего его юго-западная часть круглый год не покрывается льдом и имеет положительную температуру поверхностных вод. В Баренцевом море речной сток составляет всего лишь 2,2% от океанской воды, поступающей из Норвежского моря с Нордкапским течением в южную и центральную части моря, что обуславливает низкую скорость осадкообразования.

Целью данной работы является исследование филогенетического состава сообществ СРБ в донных осадках Баренцева и Белого морей.

Были изучены образцы донных осадков, отобранные в 67-м рейсе НИС «Академик Мстислав Келдыш» на станциях у берегов архипелагов Новая Земля и Земля Франца-Иосифа (сентябрь-октябрь 2016 г.), донного осадка из Ура-Губы у Мурманского побережья (июнь 2017 г.), а также образцы осадка с литорали Белого моря в районе Беломорской биологической станции МГУ (август 2017 г.).

Из отобранных образцов донных осадков на питательной среде Видделя для морских форм СРБ были получены накопительные культуры, выделена тотальная ДНК, а затем проведен ПЦР-анализ с помощью специфических праймеров на ген 16S рРНК шести основных подгрупп СРБ. Анализ с помощью прямой ПЦР выявил наличие в